

明 細 書

液体クロマトグラフィー装置

技術分野

- [0001] 本発明は、高速液体クロマトグラフィー装置等の液体クロマトグラフィー装置に関し、特に分離した成分をトラップカラムに捕捉して濃縮する機能を備えた液体クロマトグラフィー装置に関するものである

背景技術

- [0002] これまでの2次元高速液体クロマトグラフィー装置は、1次元目の分析でカラムの下流側で1つ以上の分析対象成分を含む溶離液を分画してトラップカラム等に分析対象成分を吸着させ、トラップカラムに吸着している分析対象成分を離脱させて2次元目の分析で再分析を行うというものであった。
- [0003] トラップカラムは1つのみが設けられており、トラップカラムでの捕捉・濃縮動作を終了した後、トラップカラムに捕捉された成分を溶出して2次元目分析カラムに導入するようにより、捕捉・濃縮動作と2次元目分析とが時系列に行われている(例えば、非特許文献1、非特許文献2参照。)。

非特許文献1: 高圧液体クロマトグラフィー ―その生化学・医化学への応用―、P.R.B ROWN著、西村暹、関谷剛男、葛西宏共訳、東京化学同人発行(1979年)、第21頁、第8行―第25頁、第6行。

非特許文献2: バイオテクノロジー分野における液体クロマトグラフィー、工業化技術総合資料集成、左右田健次監修者、株式会社NIS発行(昭和62年1月20日)、第169頁―第171頁。

発明の開示

発明が解決しようとする課題

- [0004] 捕捉・濃縮動作と2次元目分析とが時系列に行われている従来の2次元高速液体クロマトグラフィー装置は、処理効率を向上させる上で限界がある。
- [0005] そこで、本発明は、2次元高速液体クロマトグラフィー装置等の液体クロマトグラフィー装置の処理効率を向上させることを目的とするものである。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明者らは、液体クロマトグラフィー装置の処理効率を向上させることを鋭意検討した結果、下記の発明に至った。

[0007] 即ち、本発明の液体クロマトグラフィー装置は、

試料注入部から注入された試料を1次元目分析用移動相により1次元目分析カラムに導いて分離し、分離された成分を溶離液とともに分画して分取部に保持する分画用流路と、

上記分取部に保持された成分と溶離液とを希釈液によりトラップカラムに送り出して上記成分をトラップカラムに捕捉させて濃縮するトラップ用流路であって、上記トラップカラムを複数設けたトラップ用流路と、

上記トラップカラムに捕捉された成分を2次元目分析用移動相により2次元目分析カラムに導いて分析する分析流路と、

上記トラップ用流路の一のトラップカラムでの捕捉・濃縮動作と、他のトラップカラムからの2次元目分析とを同時に行うための流路切替え機構とを備える。

[0008] また、本発明のもう一つの態様である液体クロマトグラフィー装置は、

試料を複数の成分に分離する1次元目分析カラムと、

上記1次元目分析カラムにより分離された成分を各成分毎に分画して保持する分取部と、

上記分取部から供給される成分を捕捉する複数のトラップカラムと、

上記トラップカラムに捕捉された成分をさらに複数の成分に分離する2次元目分析カラムと、

上記複数のトラップカラムの内の一のトラップカラムと上記分取部とを接続し、かつ、上記複数のトラップカラムの内の他のトラップカラムと上記2次元目分析カラムとを接続する状態と、

上記複数のトラップカラムの内の他のトラップカラムと上記分取部とを接続し、かつ、上記複数のトラップカラムの内の一のトラップカラムと上記2次元目分析カラムとを接続する状態と、を切替える流路切替え機構とを備える。

[0009] 本発明装置では、上記のように異種の動作を同時に行うことができるようにすること

により、従来のようにトラップカラムが1つで捕捉・濃縮動作と2次元目分析とが時系列に行われるのに比べると、処理効率が向上する。

[0010] 言い換えると、本発明の液体クロマトグラフィー装置は流路切替え機構及び複数のトラップカラムを有しているので、次のようにして、捕捉・濃縮動作と2次元目分析動作とを並列に行うことができる。

[0011] まず、一のトラップカラムと分取部とが接続され、かつ、他のトラップカラムと2次元目分析カラムとが接続された状態では、分取部に分画されている成分を一のトラップカラムに供給し、一のトラップカラムにこの成分を捕捉させ濃縮させることができる一方、他のトラップカラムにすでに捕捉されていた成分を2次元目分析カラムに供給して2次元目の分析を行わせることができる。

[0012] また、他のトラップカラムと分取部とが接続され、かつ、一のトラップカラムと2次元目分析カラムとが接続される状態では、分取部に分画されている成分を他のトラップカラムに供給し、他のトラップカラムにこの成分を捕捉させ濃縮させることができる一方、一のトラップカラムにすでに捕捉されていた成分を2次元目分析カラムに供給して2次元目の分析を行わせることができる。

[0013] そして、このような流路切替え機構の第一状態と第二状態との切り替えを繰り返すことにより、分取部に分画された成分をトラップカラムにおいて捕捉させ濃縮させる捕捉・濃縮動作と、トラップカラムに捕捉された成分を2次元目分析カラムで分離させる2次元目分析動作とを並列に行うことができる。したがって、従来のようにトラップカラムが一つしかなく捕捉・濃縮動作と2次元目分析動作とを時系列的に、すなわち、直列に行う場合に比して、本発明では分析時間の迅速化等の処理効率の向上が図られる。

[0014] ここで、上記二つの液体クロマトグラフィー装置において、2次元目分析カラムの内径が0.03〜0.3mmであることが好ましい。このような、カラムを用いることにより分析感度の向上が図れる。

発明の効果

[0015] 本発明装置では、トラップカラムを複数設け、一のトラップカラムでの捕捉・濃縮動作と、他のトラップカラムからの2次元目分析とを同時に行えるようにしたので、従来の

ようにトラップカラムが1つで捕捉・濃縮動作と2次元目分析とが時系列に行われるのに比べると、処理効率が向上する。

図面の簡単な説明

- [0016] [図1]第1の実施形態を1次元目分析工程の状態を示す流路図である。
[図2]同実施形態を濃縮工程及び2次元目分析工程の状態を示す流路図である。
[図3]同実施形態を濃縮工程及び2次元目分析工程の状態を示す流路図である。
[図4]第2の実施形態を1次元目分析工程及び2次元目分析工程の状態を示す流路図である。
[図5]同実施形態を濃縮工程及び2次元目分析工程の状態を示す流路図である。

符号の説明

- [0017] 2a, 2b, 36a, 36b 送液ポンプ
4a, 4b 1次元目分析用移動相
6a, 6b 希釈液
8, 39 オンラインデガッサ
10, 12, 22, 28a, 28b, 50 切替えバルブ
14, 40 ミキサ
16 オートサンプラ
18, 32 分析カラム
20 UV検出器
24 フラクシオンループ
26a, 26b, 42a, 42b 分配バルブ
30a, 30b トラップカラム
42 カラムオープン

発明を実施するための最良の形態

- [0018] 本発明において「試料」とは、あらゆる形態の試料を意味し、試料成分自体、試料成分含有製剤等を溶液にしたものの他、例えば、血液、血漿、尿等を媒体とした試料成分等も挙げることができる。
- [0019] 本発明の好ましい形態では、2次元目分析用にマイクロカラム(例えば、新・高速液体

クロマトグラフィー（編集者：波多野博行、株式会社南江堂（1978年11月30日））、第49頁―第50頁参照。）を用いられる。これにより、トラップカラムに捕捉された試料が2次元目分析用カラムで効率的に高濃度に濃縮され、高感度分析が達成される。

[0020] 次に、図面を参照して本発明の実施形態を詳細に説明する。

[0021] （実施形態1）

図1は第1の実施形態に係る液体クロマトグラフィー装置100を表す。

[0022] この液体クロマトグラフィー装置100には、1次元目分析用移動相と希釈液とを供給するために互いに独立に流量を設定することのできる2台の送液ポンプ2aと2bが設けられている。送液ポンプ2aには1次元目分析用移動相である有機溶媒4aと希釈液6aとの流路が接続されている。有機溶媒4aと希釈液6aとはガスの混入を防止するオンラインデガッサ8から切替えバルブ10を介して送液ポンプ2aに接続されており、切替えバルブ10によって有機溶媒4aと希釈液6aとの何れかの流路が切り替えて接続されるようになっている。

[0023] 言い換えると、送液ポンプ2aと切替えバルブ10とが流路L1により接続され、切替えバルブ10は有機溶媒4aを貯留する有機溶媒タンク4atと流路L2を介して接続され、また、切替えバルブ10は希釈液6aを貯留する希釈液タンク6atと流路L3により接続されている。流路L2及び流路L3にはそれぞれオンラインデガッサ8が接続されている。切替えバルブ10は、流路L1と流路L2とを接続する第一状態と、流路L1と流路L3とを接続する第二状態とを切替えることができる。

[0024] 同様に、他方の送液ポンプ2bには1次元目分析用移動相である水4bと希釈液6bとの流路が接続されている。水4bと希釈液6bともオンラインデガッサ8から切替えバルブ10を介して送液ポンプ2bに接続されており、切替えバルブ10によって水4bと希釈液6bとの何れかの流路が切替えられて接続されるようになっている。

[0025] 言い換えると、送液ポンプ2bと切替えバルブ10とが流路L4により接続され、切替えバルブ10は水4bを貯留する水タンク4btと流路L5を介して接続され、また、切替えバルブ10は希釈液6bを貯留する希釈液タンク6btと流路L6により接続されている。流路L5及び流路L6にはそれぞれオンラインデガッサ8が接続されている。切替えバルブ10は、さらに、第一状態では流路L4と流路L5とを接続し、第二状態では流

路L4と流路L6とを接続する。

- [0026] 希釈液6aと6bとは同じものであってもよく、移動相である有機溶媒4a、水4bに応じてトラップカラムへの吸着効率を高めるような溶媒をそれぞれ選択して使用する。具体的には、希釈液6a、6bとしては、不揮発性塩等の緩衝剤を含まない水又は水溶液を使用することができる。緩衝剤を含む移動相を一次元目の分析に用いた場合に、かかる緩衝剤を含まない希釈液を用いることにより、成分をトラップカラムへ捕捉・濃縮させる際に、脱塩処理を行うことができる。また、このような緩衝剤を含まない希釈液を用いると、不揮発性塩等の緩衝剤の影響を受けやすい質量分析等に適した、緩衝剤を実質的に含まない分析サンプルを調製することもできる。そのため、質量分析装置や核磁気共鳴装置を取り出し用流路L52に接続し、オンライン分析を行うこともできる。
- [0027] 送液ポンプ2aと2bとの下流の流路は切替えバルブ12を介して両流路の液を混合するミキサ14に接続され、ミキサ14で混合された溶液の流路L21が試料導入部であるオートサンプラ(試料注入部)16を介して1次元目分析カラム18に接続されている。
- [0028] 言い換えると、送液ポンプ2a及び2bはそれぞれ流路L7、L8により切替えバルブ12に接続され、ミキサ14の2つの入り口もまた流路L9、L10によりそれぞれ切替えバルブ12に接続されている。この切替えバルブ12は、さらに、2本の流路L27、L28により、後述する切替えバルブ22と接続されている。切替えバルブ12は、流路L7と流路L9とを接続し、流路L8と流路L10とを接続し、流路L28と流路L27とを接続する第一状態と、流路L9と流路L10とを接続し、流路L8と流路L28とを接続し、流路L7と流路L27とを接続する第二状態とを切替える。
- [0029] 分析カラム18の下流の流路L22はUV(紫外線)検出器20に接続され、分析カラム18で分離された成分が検出器20で検出されるようになっている。検出器20の下流の流路L23は切替えバルブ22を介してフラクションループ(分取部)24に接続されている。フラクションループ24は2つの分配バルブ26aと26bとの間に複数の流路27を並列に備え、分画した成分と移動相とをそれぞれの流路27に保持できるようになっている。

- [0030] 言い換えると、検出器20の出口と切替えバルブ22とが流路L23により接続され、切替えバルブ22と分配バルブ26aとが流路L24により接続され、切替えバルブ22と分配バルブ26bとが流路L25により接続されている。
- [0031] 切替えバルブ22にはドレインへつながる流路L26も接続されている。
- [0032] この切替えバルブ22は、流路L25と流路L26とを接続し、流路L23と流路L24とを接続し、流路L28と流路L27とを接続する第一状態と、流路L25と流路L28とを接続し、流路L27と流路L24とを接続し、流路L26と流路L23とを接続する第二状態とを切替える。
- [0033] 上述のように、バルブ12と22との間には2つの流路L28、L27が接続され、一方の流路L27は分岐してトラップ用流路に接続されている。
- [0034] トラップ用流路ではトラップカラムがトラップカラム30a及び30bとして示されるように2つ設けられ、切替えバルブも切替えバルブ28aと28bとして示されるように2つ設けられ、トラップカラム30aと30bとがともに切替えバルブ28aと28bとに接続されて同時に使用できるようになっている。バルブ12と22との間の一方の流路L27から分岐した流路L30は切替えバルブ28bに接続され、その切替えバルブ28bには流路L50を介して更に2次元目分析カラム32も接続されている。
- [0035] 言い換えると、流路L30の先には切替えバルブ28bが接続され、切替えバルブ28bには流路L31を介してトラップカラム30bの一端が接続され、また、切替えバルブ28bには流路L33を介してトラップカラム30aの一端が接続されている。トラップカラム30bの他端は流路L32を介して切替えバルブ28aに接続され、トラップカラム30aの他端は流路L34を介して切替えバルブ28aに接続されている。さらに、切替えバルブ28aにはドレインに接続された流路L35も接続されている。
- [0036] 分析カラム32の下流の流路L52にはUV検出器34が接続されている。
- [0037] また、この液体クロマトグラフィー装置100には、2次元目分析用移動相を供給するために2台の送液ポンプ36aと36bとが設けられている。送液ポンプ36a, 36bには2次元目分析用移動相である有機溶媒38a及び水38b用の流路がオンラインデガッサ39を介してそれぞれ接続されている。送液ポンプ36aと36bとの下流の流路は両流路の液を混合するためのミキサ40を介して切替えバルブ28aに接続されている。

- [0038] 言い換えると、送液ポンプ36a及びオンラインデガッサ39が接続された流路L41を介して、ミキサ40の一方の入り口と、有機溶媒38aを貯留する有機溶媒タンク38atとが接続されている。また、送液ポンプ36b及びオンラインデガッサ39が接続された流路L42を介して、ミキサ40の他方の入り口と、水38bを貯留する水タンク38btとが接続されている。ミキサ40の出口は流路L46を介して切替えバルブ28aに接続されている。
- [0039] そして、切替えバルブ28aは、流路L46と流路L34とを接続し、かつ、流路L32と流路L35とを接続する第一状態と、流路L46と流路L32とを接続し、かつ、流路L34と流路L35とを接続する第二状態とを切替える。
- [0040] また、切替えバルブ28bは、流路L33と流路L50とを接続し、かつ、流路L30と流路L31とを接続する第一状態と、流路L30と流路L33とを接続し、かつ、流路L31と流路L50とを接続する第二状態とを切替える。
- [0041] また、参照符号42はカラムオープンであり、分析カラム18とトラップカラム30a, 30bとを一定の温度に保持する。
- [0042] 分析カラム18, 32は、互いに同一でも異なってもよく、順相カラム、逆相カラム、イオン交換カラム、アフィニティクロマトカラム、GPC (ゲル浸透クロマトグラフィ) カラム等、種々のカラムを分離分析しようとする成分に応じてそれぞれ選択して使用すれば良い。
- [0043] 特に、2次元目分析カラム32としては、分析感度を向上すべく、マイクロカラムやナノカラムといわれるカラム、すなわち、内径0.03〜0.3mmのカラムを用いることが好ましい。2次元分析カラム32の長さは、通常10〜30cm程度である。
- [0044] トラップカラム30a, 30bは、分析対象となる化合物によって好適な種類を選択すればよく、例えば、分析カラム18, 32と同種のカラムで短いものを使用することができる。具体的には、トラップカラム30a, 30bとしては、通常その内径が一次元目分析カラムの内径よりも小さいカラムが用いられ、一次元目分析カラムの内径にもよるが、通常0.03〜1.2mmの内径、好ましくは、0.03〜0.3mmの内径のカラムが使用される。また、トラップカラム30a, 30bとしては、例えば、筒状部材内に充填剤を充填した充填型カラム、モノリス型カラム等を用いることができる。充填型カラムをトラップカラムと

して用いる場合には、その粒径が10〜60 μm である充填剤が充填された充填型カラムを用いることが好ましい。また、トラップカラムの長さは特に制限されないが、通常は10〜100mm程度である。

[0045] ここで、切替えバルブ28a及び切替えバルブ28bが流路切替え機構を形成している。

[0046] また、1次元目分析カラム18、フラクシオンループ24、流路L22、流路L23、流路L25、流路L24、流路L21等が分画用流路を形成している。

[0047] また、トラップカラム30a、30b、流路L34、流路L33、流路L32、流路L31、流路L30、流路L35等がトラップ用流路を形成している。

[0048] また、2次元目分析カラム32及び流路L50等が分析流路を形成している。

[0049] 次に、この実施形態の動作について説明する。

[0050] (1次元目分析)

図1は1次元目分析及び分画の工程を表したものである。流路で太線で表されている部分は当該工程の主な動作を示す流路である。以下の図の説明でも同じである。

[0051] まず、あらかじめ切替えバルブ10、12、22はそれぞれ第一状態とされている。

[0052] 切替えバルブ10により移動相である有機溶媒4aと水4bとが選択されている状態で送液ポンプ2aと2bとが送液を行う。移動相である有機溶媒4a及び水4bは切替えバルブ12を経てミキサ14で混合され、オートサンプラ16を経て分析カラム18に流れる。オートサンプラ16から注入された試料は分析カラム18で分離され、溶出して検出器20で検出される。検出器20でピーク検出が行われると、その信号に応じて分配バルブ26aと26bとが働き、フラクシオンループ24の何れかの流路27に分画された試料成分が移動相とともに保持される。

[0053] 検出器20によりピーク検出が行われる毎に分配バルブ26aと26bが切り替えられてそれぞれのフラクシオンループ24における流路27に分画された試料成分と移動相の保持がなされていく。分析カラム18から流出する移動相でフラクシオンループ24に保持されなかったものは、流路L26を介してドレインから排出されていく。

[0054] この工程の間も、2次元目分析用移動相である有機溶媒38aと水38bとがオンラインデガッサ39を経て気泡が除去された状態でそれぞれ送液ポンプ36aと36bとにより

供給され、ミキサ40で混合されて送られ、切替えバルブ28aからいずれかのトラップカラム30a又は30bを経て2次元目分析カラム32に移動相が流れて、トラップカラムや2次元目分析カラム32等のコンディショニングが行われる。

[0055] (濃縮と2次元目分析)

図2より、トラップカラム30bによる濃縮と、トラップカラム30aに捕捉されていた試料成分を溶出して分析カラム32で2次元目分析を行う動作を説明する。

[0056] 切替えバルブ10が切り替えられて、希釈液6aと6bとが送液ポンプ2aと2bとによって供給される。すなわち、切替えバルブ10が第二状態に切替えられる。さらに、切替えバルブ12, 22をそれぞれ第二状態に切替える。切替えバルブ28a, 28bは第一状態となっているものとする。

[0057] 送液ポンプ2bにより供給される希釈液6bは切替えバルブ12, 22を通過して分配バルブ26bから所定のフラクシオンループ24を通り、そのフラクシオンループ24、具体的にはフラクシオンループ24のいずれかの流路27に保持されていた分画成分と移動相とが分配バルブ26aから切替えバルブ22, 28bを通り、トラップカラム30bに導かれる。すなわち、希釈液6bが、流路L8, 流路L28, 流路L25、フラクシオンループ24、流路L24、流路L27、流路L30、流路L31と流れ、フラクシオンループ24に分画されていた成分が押し出されてトラップカラム30bに到達する。

[0058] このとき、希釈液6aがポンプ2aから切替えバルブ12を経て供給され、フラクシオンループ24を経た流路と合流し、その流路からの移動相を希釈しながらトラップカラム30bへ導かれる。すなわち、希釈液6aが、流路L7、流路L27、流路L30、流路L31と流れ、フラクシオンループ24から流れる成分を希釈しながらトラップカラム30bに到達する。

[0059] トラップカラム30bでは試料成分が捕捉されることにより濃縮されていく。すなわち、フラクシオンループ24に分画されていた成分がトラップカラム30bに捕捉され、したがってこの成分がトラップカラム30bに濃縮される。トラップカラム30bを経た移動相と希釈液とは切替えバルブ28aを経てドレインへ排出される。

[0060] 一方、2次元目分析用移動相である有機溶媒38aと水38bとがオンラインデガッサ39を経て気泡が除去された状態でそれぞれ送液ポンプ36aと36bとにより供給され、ミ

キサ40で混合されて送られる。その混合された移動相は切替えバルブ28aを経てトラップカラム30aに至り、トラップカラム30aに捕捉されていた試料成分を溶出して切替えバルブ28bから2次元目分析カラム32に導く。すなわち、有機溶媒38a及び水38bが、流路L46、流路L34、トラップカラム30a、流路L33、流路L50、2次元目分析カラム32の順に流れ、トラップカラムに濃縮されていた成分が溶出して2次元目分析カラム32に供給される。

[0061] 分析カラム32に導かれた試料成分は更にその分析カラム32で分離され、溶出して検出器34で検出される。

[0062] 次に、切替えバルブ28aと28bとを切替えると、トラップカラム30aによる濃縮と、トラップカラム30bに捕捉されていた試料成分を溶出して分析カラム32で2次元目分析を行う動作を行うようになる(図3参照)。

[0063] すなわち、切替えバルブ28a, 28bをそれぞれ第二状態に切替えると、フラクシオンループ24に分画されていた成分が上述と同様にして希釈液6bにより押し出されると共に希釈液6aにより希釈され、続いて流路L30、切替えバルブ28b及び流路L33を通過してトラップカラム30aに導かれる。フラクシオンループ24に画成されていた成分はトラップカラム30aに捕捉され濃縮される一方、不要な移動相や希釈液はトラップカラム30aを通過して流路L34、切り替えバルブ28a及び流路L35を介してドレインに排出される。また、切替えバルブ28a, 28bを異なる状態に切替える際には、フラクシオンループの分配バルブ26a, 26bを合わせて切替える。これにより、例えば、図2の状態の時とは異なる流路27から異なる分画成分がトラップカラム30aに供給され、捕捉・濃縮される。

[0064] 一方、2次元目分析用移動相である有機溶媒38a及び水38bは、流路L46、切替えバルブ28a、流路L32を経てトラップカラム30bに至り、トラップカラム30bに捕捉されていた成分を溶出し、この成分を流路L31、切替えバルブ28b及び流路L50を介して2次元目分析カラム32に導く。そして、2次元目分析カラム32において、2次元目の分析を行う。そして、このような切替えバルブ28a及び切替えバルブ28bの状態の切替えを繰り返して、一方のトラップカラムによるフラクシオンループ24の各分画成分の捕捉・濃縮と、他方のトラップカラムに捕捉された成分の2次元目分析カラムによ

る2次元目分析とを並列に行う。

[0065] このように、本実施形態では、トラップカラムを並列に二系統設け、一のトラップカラムとフラクションループ24とを接続しかつ他のトラップカラムと2次元目分析カラム32とを接続する第一状態と、他のトラップカラムとフラクションループ24とを接続しかつ一のトラップカラムと2次元目分析カラム32とを接続する第二状態とを流路切替え機構により交互に切替えることにより、トラップカラムにおける成分の捕捉・濃縮と、トラップカラムに捕捉された成分の2次元目分析カラム32での分析とを並列に行うことができる。これによって、分析に要する時間の短縮等の分析効率の向上が著しい。

[0066] (実施形態2)

図4は第2の実施形態にかかる液体クロマトグラフィー装置200を表す。

[0067] 図1の実施形態と比較すると、トラップカラム30a, 30bはそれぞれ複数個が並列に設けられ、それぞれ分配バルブ42a, 42bと分配バルブ44a, 44bとによりいずれが選択できるようになっている点で異なる。

[0068] 言い換えると、流路L34に分配バルブ42bが接続され、分配バルブ42bから分配された各流路L42bにそれぞれトラップカラム30aの一端が接続され、トラップカラム30aの他端がそれぞれ流路L42aにより分配バルブ42aに接続され、この分配バルブ42aが流路L33と接続されている。

[0069] また、流路L32に分配バルブ44bが接続され、分配バルブ44bから分配された各流路L44bにそれぞれトラップカラム30bの一端が接続され、トラップカラム30bの他端がそれぞれ流路L44aにより分配バルブ44aに接続され、この分配バルブ44aが流路L31と接続されている。

[0070] この実施形態は1次元目分析動作及び分画の動作と、2次元目分析とを同時に行うとともに、トラップによる濃縮動作と2次元目分析とを同時に行うようにしたものである。

(1次元目分析及び2次元目分析)

図4は1次元目分析及び分画の工程と2次元目分析とを同時に行う動作を表したものである。実施形態1の図1に示した動作と同じく、一次元目分析カラム18による1次元目分析及びフラクションループ24による分画の動作を行う。

[0071] 一方、2次元目分析用移動相である有機溶媒38aと水38bとがオンラインデガッサ39を経て気泡が除去された状態でそれぞれ送液ポンプ36aと36bとにより供給され、ミキサ40で混合されて切替えバルブ28aに送られる。その混合された移動相は切替えバルブ28aを経て分配バルブ42a, 42bにより選択されたトラップカラム30aの1つに至り、そのトラップカラム30aに捕捉されていた試料成分を溶出して切替えバルブ28bから2次元目分析カラム32に導く。分析カラム32に導かれた試料成分は更にその分析カラム32で分離され、溶出して検出器34で検出される。

[0072] 切替えバルブ28aと28bとを切り替えると(図示省略)、分配バルブ44a, 44bにより選択されたトラップカラム30bの1つに捕捉されていた試料成分を溶出して分析カラム32で2次元目分析を行う動作を行うようになる。

(濃縮と2次元目分析)

図5は、分配バルブ44a, 44bにより選択されたトラップカラム30bの1つによる濃縮と、分配バルブ42a, 42bにより選択されたトラップカラム30aの1つに捕捉されていた試料成分を溶出して分析カラム32で2次元目分析を行う動作とを示したものである。この動作は図2の動作の説明と同じである。続いて、切替えバルブ28aと28bとを切り替えると(図示省略)、分配バルブ42a, 42bにより選択されたトラップカラム30aの1つによる濃縮と、分配バルブ44a, 44bにより選択されたトラップカラム30bの1つに捕捉されていた試料成分を溶出して分析カラム32で2次元目分析を行う動作を行うようになる。

[0073] 本実施形態でも第一実施形態と同様の作用効果を奏し、例えば、希釈液として不揮発性塩等の緩衝剤を含まない希釈液を用いると、脱塩処理を好適に行える。さらに、本実施形態ではこれに加えて以下のような利点がある。分析対象となる成分の種類等によってはトラップカラムから成分を溶出させた後にその成分がトラップカラムに一部残留する場合がある。このような場合には、溶出の後次の濃縮の前に、使用したトラップカラム30a, 30bの洗浄を必要とする場合が想定される。しかしながら、本実施形態では、トラップカラム30a, 30bをそれぞれ複数有するので、トラップカラム30a, 30bの合計数がトラップする成分の数より多く設けられている場合には洗浄時間が不要となり分析時間を短縮できる。また、トラップカラム30a, 30bの合計数がトラップ

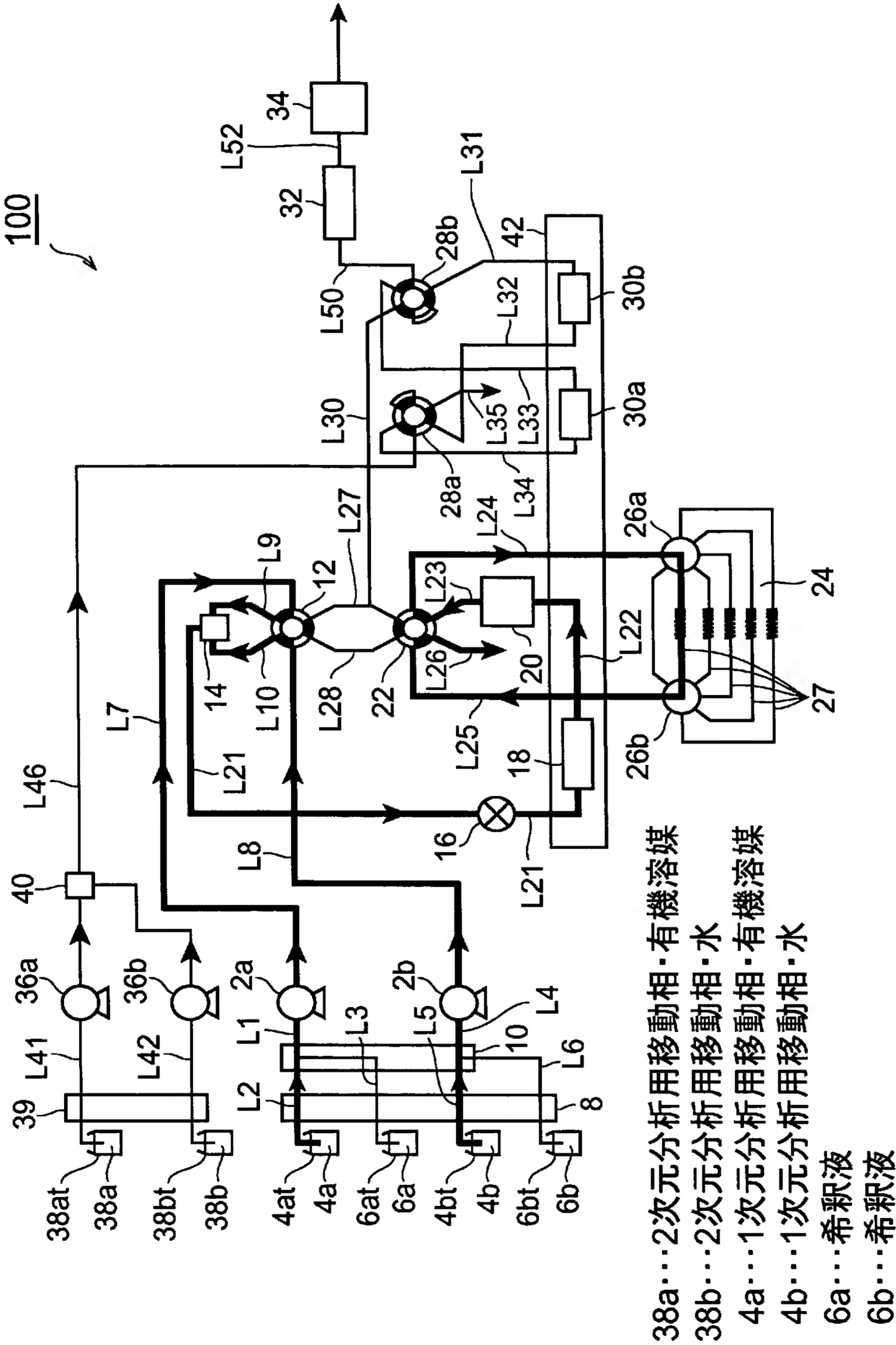
する成分の数よりも少ない場合でも、第一実施形態の場合に比べて洗浄回数が少なくてすむので分析時間を短縮できる。

請求の範囲

- [1] 試料を複数の成分に分離する1次元目分析カラムと、
前記1次元目分析カラムにより分離された成分を各成分毎に分画して保持する分取部と、
前記分取部から供給される成分を捕捉する複数のトラップカラムと、
前記トラップカラムに捕捉された成分をさらに複数の成分に分離する2次元目分析カラムと、
前記複数のトラップカラムの内の一のトラップカラムと前記分取部とを接続し、かつ、
前記複数のトラップカラムの内他のトラップカラムと前記2次元目分析カラムとを接続する状態と、
前記複数のトラップカラムの内他のトラップカラムと前記分取部とを接続し、かつ、
前記複数のトラップカラムの内一のトラップカラムと前記2次元目分析カラムとを接続する状態と、を切替える流路切替え機構と、
を備える液体クロマトグラフィー装置。
- [2] 試料注入部から注入された試料を1次元目分析用移動相により1次元目分析カラムに導いて分離し、分離された成分を溶離液とともに分画して分取部に保持する分画用流路と、
前記分取部に保持された成分と溶離液とを希釈液によりトラップカラムに送り出して前記成分をトラップカラムに捕捉させて濃縮するトラップ用流路であって、前記トラップカラムを複数設けたトラップ用流路と、
前記トラップカラムに捕捉された成分を2次元目分析用移動相により2次元目分析カラムに導いて分析する分析流路と、
前記トラップ用流路の一のトラップカラムでの捕捉・濃縮動作と、他のトラップカラムからの2次元目分析とを同時に行うための流路切替え機構とを備えた液体クロマトグラフィー装置。
- [3] 2次元目分析カラムの内径が0.03ー0.3mmである請求項1又は2記載の液体クロマトグラフィー装置。

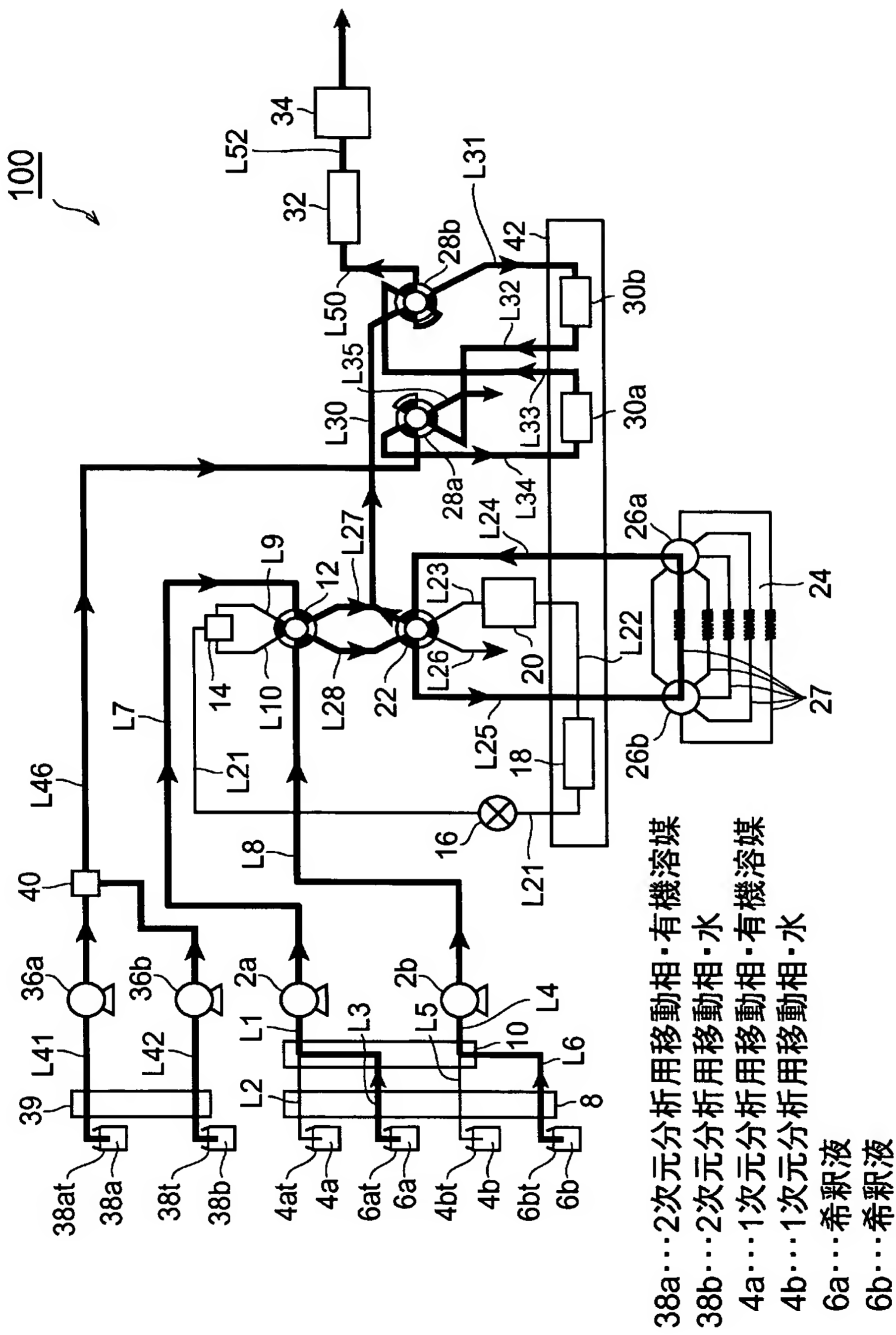
[図1]

(1)1次元目分析



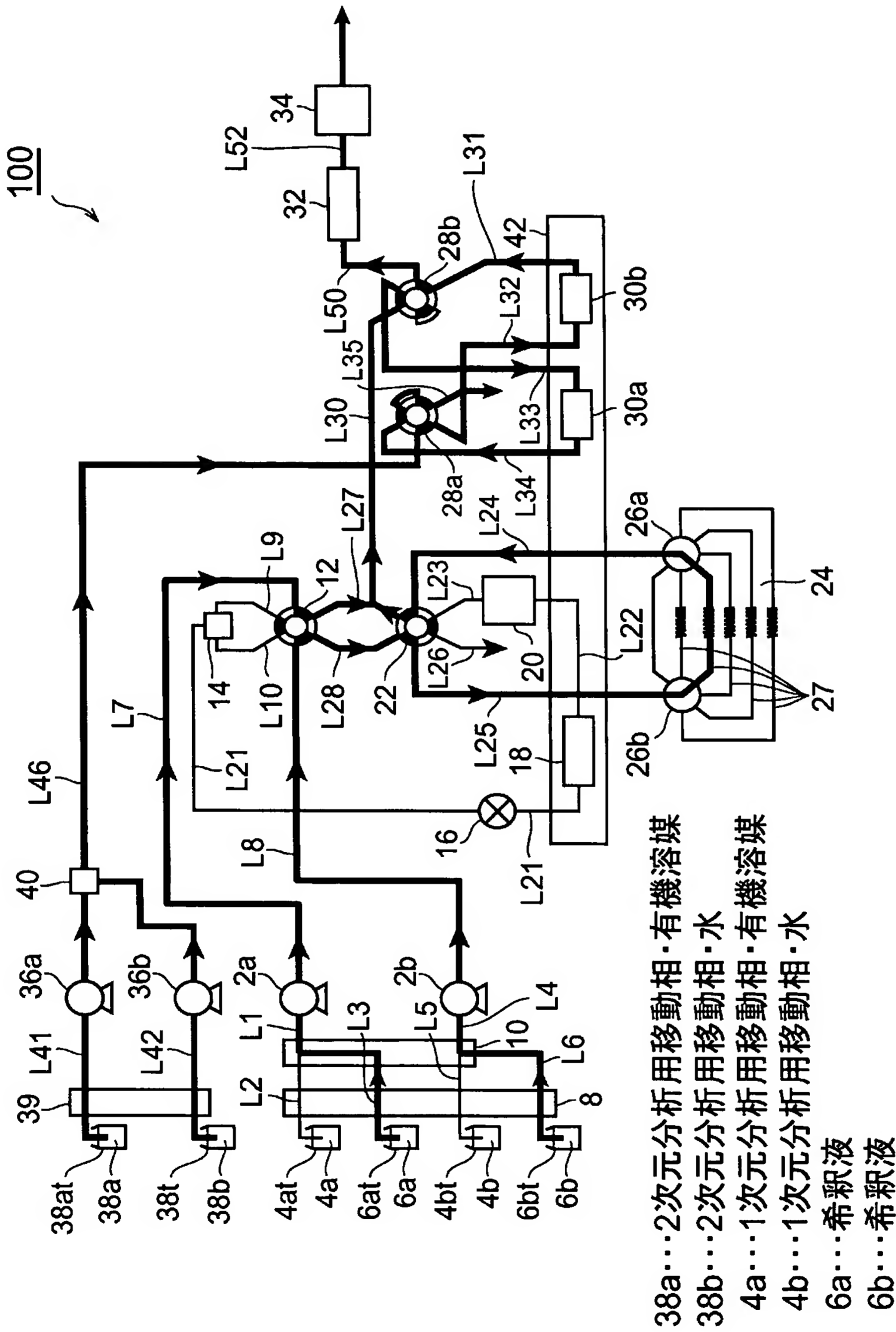
[図2]

(2)濃縮と2次元目分析



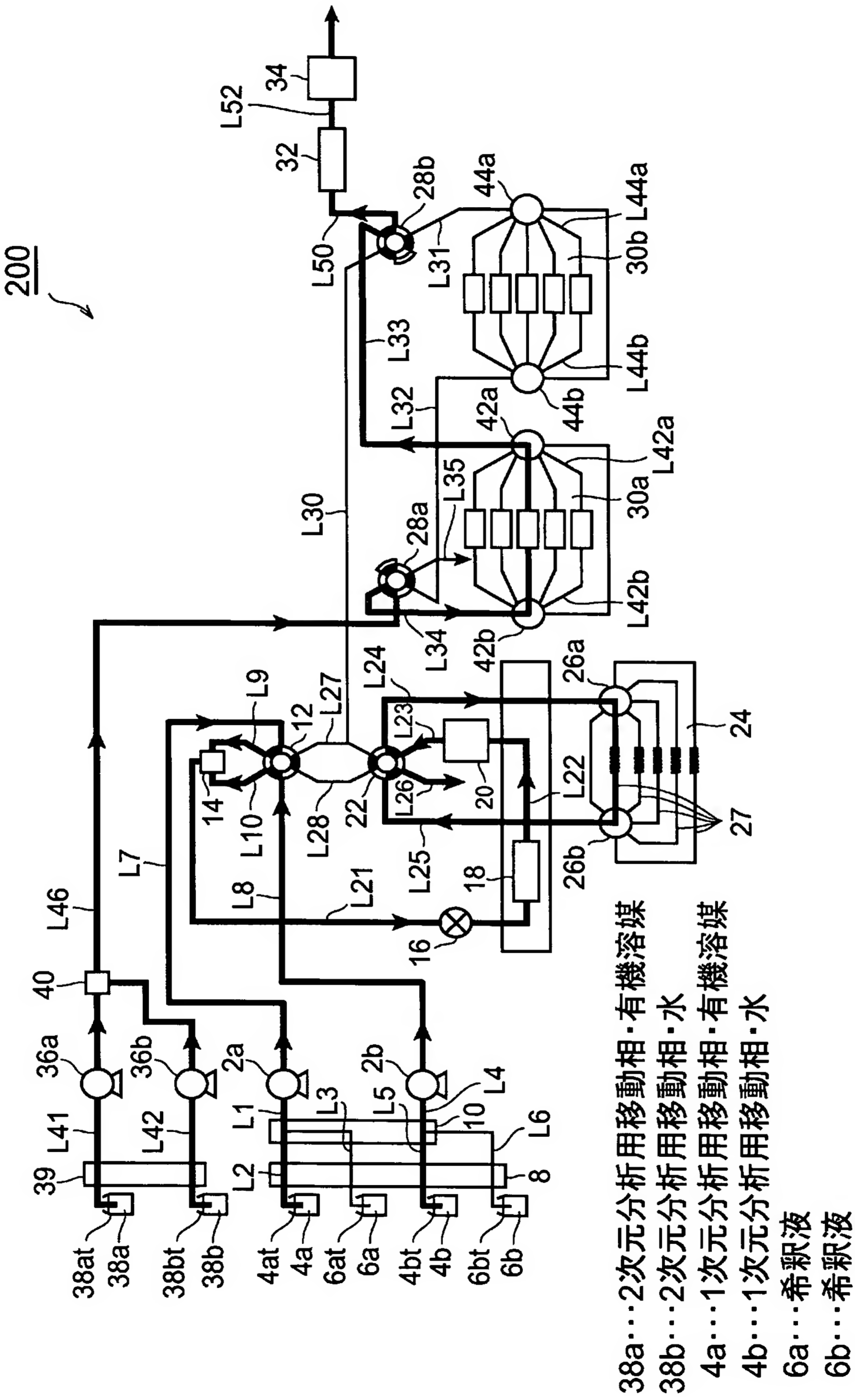
[図3]

(2)濃縮と2次元目分析



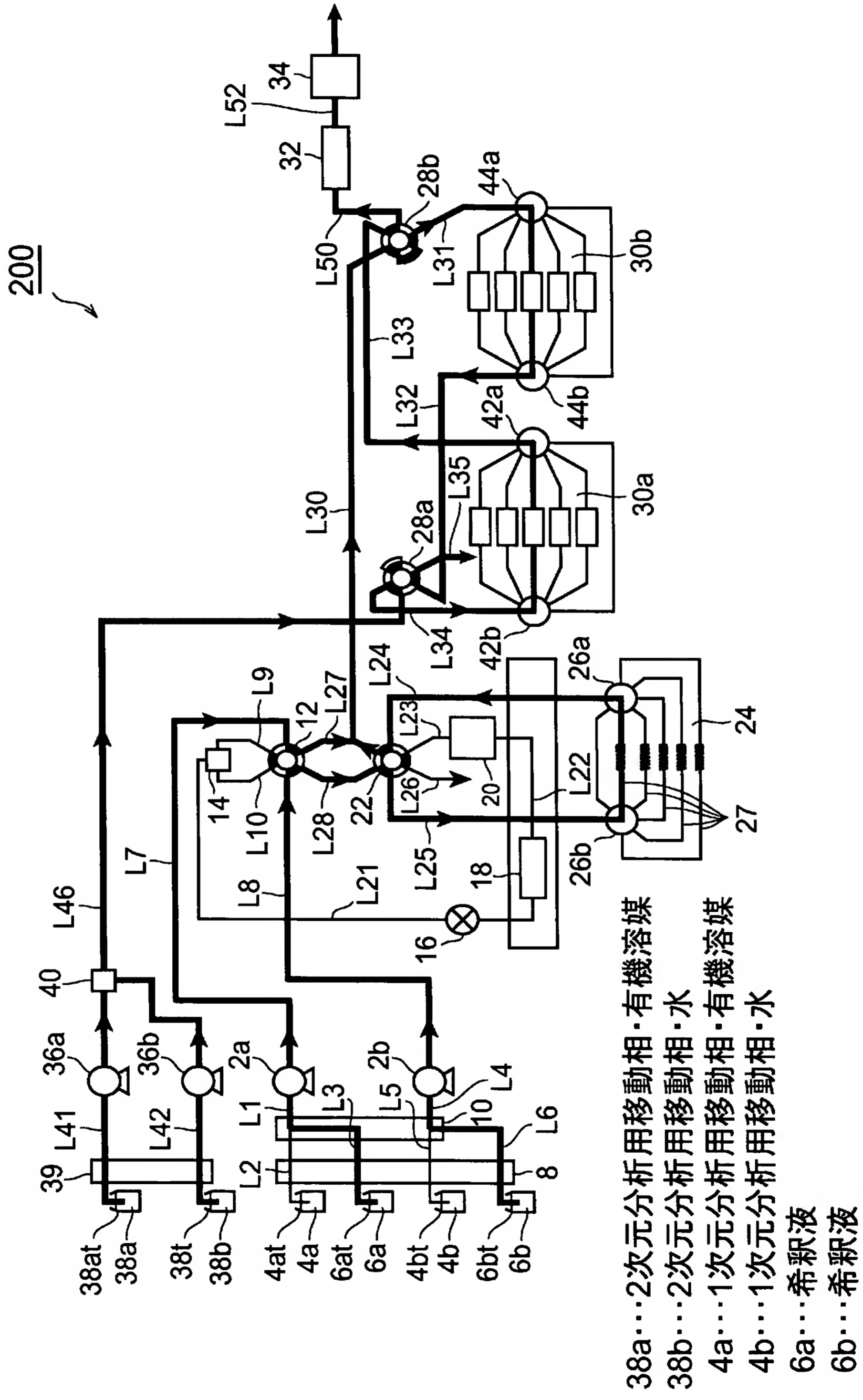
[図4]

(1)1次元目分析と2次元目分析



[図5]

(2)濃縮と2次元目分析



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/012648

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl⁷ G01N30/46, G01N30/26, G01N30/84

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl⁷ G01N30/46, G01N30/26, G01N30/84

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Jitsuyo Shinan Koho	1922-1996	Toroku Jitsuyo Shinan Koho	1994-2004
Kokai Jitsuyo Shinan Koho	1971-2004	Jitsuyo Shinan Toroku Koho	1996-2004

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	JP 7-5160 A (Mitsubishi Petrochemical Co., Ltd.), 10 January, 1995 (10.01.95), (Family: none)	1-3
Y	JP 4-221759 A (Shimadzu Corp.), 12 August, 1992 (12.08.92), (Family: none)	1-3

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
22 December, 2004 (22.12.04)

Date of mailing of the international search report
18 January, 2005 (18.01.05)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N30/46, G01N30/26, G01N30/84

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ G01N30/46, G01N30/26, G01N30/84

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報 1922-1996年

日本国公開実用新案公報 1971-2004年

日本国登録実用新案公報 1994-2004年

日本国実用新案登録公報 1996-2004年

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	J P 7-5160 A (三菱油化株式会社) 1995. 01. 1 0 (ファミリーなし)	1-3
Y	J P 4-221759 A (株式会社島津製作所) 1992. 0 8. 12 (ファミリーなし)	1-3

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

22. 12. 2004

国際調査報告の発送日

18. 1. 2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

竹中 靖典

2 J

9507

電話番号 03-3581-1101 内線 3251